

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H04202

研究課題名(和文) パーチャル空間における機能性分子創製法の確立とその実験的検証

研究課題名(英文) Molecular design of real proteins in virtual space

研究代表者

黒田 大祐 (Kuroda, Daisuke)

国立感染症研究所・治療薬・ワクチン開発研究センター・主任研究官

研究者番号：60756732

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：分子シミュレーションと機械学習に基づくパーチャル空間での変異導入実験を通して、より高機能な抗体設計技術を考案し、以下の成果を得た。(1) 2種類の異なる抗体の物性の向上に成功した。(2) 3種類の異なる抗体の機能の向上に成功した。(3) 機能性ペプチドの創製に成功した。(4) 抗体の親和性成熟過程を解析し、抗体進化の過程で導入される変異の役割を明らかにした。(5) 単ドメイン抗体の抗原認識部位の配列-構造相関を明らかにした。(6) 上記1-5で同定されたデザイン変異を機械学習によりどの程度予測できるかを検証した。(7) 分子動力学計算を用いて、さまざまなタンパク質工学実験結果の合理的な解釈を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

物質を分子レベルで自在に設計・制御する技術は、多くの研究者にとって「夢の技術」である。タンパク質の物性を自在に制御できるようになれば、基礎研究のみならず、医薬品や新規素材開発への応用など、その社会へのインパクトも大きい。また、脊椎動物の免疫系に関わる抗体分子は、異物に対して高い特異性を持ち、生体防御を担っている。抗体に関する研究は、生体分子の特異的分子認識機構に関する知見を与えるだけでなく、近年注目を集めている抗体医薬品などの開発にもつながる。

研究成果の概要(英文)：Through virtual mutagenesis experiments based on molecular simulations and machine learning, we have made advances in antibody design: (1) Enhanced properties of two antibodies. (2) Improved function of three different antibodies. (3) Created functional peptides. (4) Analyzed antibody affinity maturation, clarifying mutation roles. (5) Revealed sequence-structure correlation of the antigen binding site in single-domain antibodies. (6) Verified the predictability of machine learning in identifying designed mutations. (7) Used molecular dynamics calculations for rational interpretation of various protein engineering results.

研究分野：バイオインフォマティクス

キーワード：抗体設計 ペプチド設計 分子シミュレーション 機械学習 親和性成熟 安定性 分子設計 抗体工学

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

近年、さまざまな計測技術や情報処理技術の飛躍的發展により、これまでの技術では観測できなかつたものが観測できるようになり、得られるデータ量が大幅に増加している。例えば、次世代シーケンサーによる遺伝子解析や、天体観測のための望遠鏡など、計測によるビッグデータの創出とコンピュータを用いた情報処理という一連の流れによる知識発見の例は枚挙に暇がない。「分子設計」においても、そうした流れは例外ではない。材料科学の分野では、データマイニングなどの情報処理技術を通して、新材料や代替材料を効率的に探索する、「マテリアルズ・インフォマティクス」という新分野も登場し、注目を集めている。

物質を分子レベルで自在に設計・制御する技術は、多くの研究者にとって「夢の技術」である。そうした「夢の技術」の実現に向けて、タンパク質の分子設計は、「タンパク質工学」として1980年代から盛んに行われてきた (Ulmer, *Science*, 219(4585):666-71, 1983)。これは、人間が望む機能を持つタンパク質を目指して、遺伝子操作などでアミノ酸配列を改変し、機能性タンパク質を創製する技術を確立する学問である (油谷克英・中村春木, 1991, 蛋白質工学 [朝倉書店])。タンパク質の物性を自在に制御できるようになれば、基礎研究のみならず、医薬品や新規素材開発への応用など、その社会へのインパクトも大きい。

現状の機能性タンパク質の創製では、ファージディスプレイなどの進化分子工学を用いる手法が主流である。2018年にノーベル化学賞が与えられたことから分かるように、ファージディスプレイは確立された技術であり、広く普及している。例えば、リウマチ適応である抗体医薬品「ヒュミラ」に関しても、ファージディスプレイを用いて取得されている。しかし、こうした手法では、抗原への「ランダム」な結合を基にタンパク質を選抜するため、標的への結合親和性以外の物性の制御が難しい。また、そのランダム性から、特定のエピトープ (抗体が認識する抗原上の領域) を狙って抗体を取得することが難しくなっている。

一方で、21世紀に入り、コンピュータを用いたタンパク質設計の例が報告され始めている。2011年には、インフルエンザウイルスのヘマグルチニンに結合するタンパク質の *de novo* 設計が報告された (Fleishman et al., *Science*, 332(6031):816-21, 2011)。しかし、得られたタンパク質は標的への結合親和性が低く、結合能を向上させるために、進化分子工学に頼る必要があった。したがって、コンピュータだけで、文字通りゼロから、標的への高い結合親和性を有する機能性タンパク質を創製したという例は、当時はまだ存在しなかつた。つまり、たとえ標的タンパク質の複合体構造が利用できたとしても、そこからコンピュータ技術だけで結合親和性を向上させることは、当時はまだ難しかった。特に免疫系において極めて重要な役割を果たしている「抗体」分子に関しては、その医薬品や材料としての応用面での重要性にも関わらず、コンピュータで物性や機能を向上させた例は僅か数例しか存在せず、それぞれの研究者が1つの標的 (抗原) に対して独自に報告しており、その数少ない成功例は各論にとどまっていた。

## 2. 研究の目的

以上の背景をふまえ、本研究では情報・計算科学技術を活用し、ランダムな変異導入ではなく合理的に高性能な抗体を創製するための方法論を確立することを目的とした。特に、どのような標的抗原・条件の時にどのような計算手法を用いることで、目的の分子設計が実現できるかを、複数の抗体を題材とし、検証した。また、抗体の抗原認識部位は相補性決定領域 (CDR) と呼ばれる6つのループ状の限られた長さの部分構造で構成されている。IgG抗体の全長はおよそ1200アミノ酸で構成されるが、CDRに相当するのは、そのうちのおよそ70アミノ酸程度であり、中でも最も機能面で重要と考えられているCDR-H3の長さは、ヒト抗体では5アミノ酸から30アミノ酸程度である。そこで、2つ目の研究目的として情報・計算科学技術を用いた「ペプチド」の分子設計を設定した。ペプチド分子は分子量が小さいため、計算面でも扱いやすい。標的抗原へ結合できるペプチドの自在設計が実現すれば、デザインペプチドを抗体CDRへ移植することで、将来的な機能性抗体の *de novo* 設計にもつながると考えた。抗体設計、ペプチド設計のいずれでもコンピュータによる予測だけでなく、実験による予測の検証も行った。

## 3. 研究の方法

分子動力学 (MD) 計算には Gromacs を、分子デザイン計算には Rosetta や FoldX を用いた。Rosetta に関しては、ソフトウェアの開発段階から関わっている。量子化学計算には GAUSSIAN や PAICS を用いた。機械学習では Scikit-learn や PyTorch を用いた。設計した分子の標的への結合親和性に関しては、等温滴定型熱量計 ITC 測定や表面プラズモン共鳴 SPR、ELISA などを用いた測定を行なった。物性に関しては、示差走査熱量計 DSC 測定や示差走査蛍光光度 DSF 測定などにより熱安定性を、動的光散乱法 DLS などを用いて凝集性の評価を行なった。

#### 4. 研究成果

- (1) コンピュータ上での網羅的なアミノ酸変異探索により 2 種類の異なる抗体 A と B の物性(熱安定性や凝集性)の向上/改善に成功した。
  - a. 抗体 A の熱安定性を上げることに成功した。DSC により熱安定性を実験的に評価した。デザイン抗体を長期間保存した場合の凝集性の改善も DLS 測定により確認した。抗原に対する結合能も ELISA を用いて評価し、結合能が維持されていることを確認した。
  - b. タンパク質の表面に荷電性のアミノ酸を導入することで、その物性を向上させる「Supercharging」という技術が知られている。抗体 A に対して Supercharging 計算を実施し、その物性および機能を実験的に測定した。熱安定性に関しては、Supercharging 抗体は pH 変化に対してロバストであることを DSC 測定により明らかにした。抗体の表面電荷のバリエーションによるデザイン抗体の凝集性の変化/改善も DLS 測定により確認した。さらに、リゾチームの実効電荷はプラスであるにも関わらず、実効電荷をプラス 10 にしたデザイン抗体は、野生型と同等な結合性を持つことを ITC 測定により示した。また、その原因が溶媒中に含まれるリン酸イオンに由来することを MD 計算を用いて明らかにした。
  - c. 抗体 B では、コンピュータ設計により熱安定性の向上は見られたものの、抗原に対する親和性は低下してしまった。MD 計算により、その原因がデザイン抗体の構造柔軟性および動的挙動の変化に由来することを明らかにした。
  
- (2) コンピュータ上での網羅的なアミノ酸変異探索により 3 種類の異なる抗体 C、D、E の機能(結合親和性や中和能)の向上に成功した。
  - a. 金属イオンの有無で動的挙動が変化する抗原を認識する抗体 C に対して、コンピュータ設計を行なった。抗体 C は、金属イオンの存在下に比べ、非存在下ではこの抗原との結合親和性が低下することが知られていたが、金属非存在下でも存在下と同程度の結合親和性を獲得できるようなデザイン計算に成功した。デザイン部位は、抗原タンパク質単独での MD 計算により同定した。また、ITC 測定により実験的に得られた熱力学的プロファイルとデザイン抗体の MD 計算により得られた統計量の一致を確認し、デザイン計算および MD 計算による実験測定結果の解釈の妥当性の検証に成功した。
  - b. ウイルス A を標的とする抗体 D に対してデザイン計算を実施し、抗原タンパク質に対する 50 倍以上の結合親和性の向上に成功した。中和能の向上も実験的に確認した。
  - c. ウイルス B を標的とする抗体 E に対してデザイン計算を実施し、ウイルス B の変異株の抗原タンパク質に対しても、新たな特異性・中和能を獲得できることを示した。結果として、ウイルス B の複数の変異株に対しても幅広い中和能を有する新規抗体を分子設計することに成功した。ここでは、研究代表者の過去の研究 (Kuroda & Gray *Bioinformatics* 2016) に基づき、従来から使われている「相互作用エネルギー」の他に、相互作用面の「かたちの相補性」や「水素結合の数」などを指標にデザイン計算を行なった。
  
- (3) コンピュータ設計により機能性ペプチドの創製に成功した。
  - a. 分担者の森本らと共同で、非天然骨格を持つペプチドの分子設計に成功した。量子化学計算を用いることで、取りうる配座を予測し、それが目的の配座を取っていることを X 線構造解析により確認した。また、MD 計算を用いることで、ペプチドの溶液中(水およびエタノール中)での挙動を考察した。
  - b. 天然のアミノ酸のみから構成されるペプチド断片をスキャフォールド蛋白質 (Adhiron) に移植することで、どの程度構造変化が起こりうるのかを解析した。移植したペプチド断片が目的の二次構造を取るために必要な因子を MD 計算を用いて同定した。
  
- (4) 抗体の親和性成熟過程を分子シミュレーションにより解析し、抗体進化の過程で導入される変異の役割を明らかにした。
  - a. SPR 測定および DSC 測定により、抗体の親和性成熟過程で導入される変異がどのように抗体の物理化学パラメータに影響を与えているかを定量的に明らかにした。
  - b. MD 計算を用いて抗体の物性変化と構造ダイナミクスの関係も明らかにした。
  - c. さらに、抗体の Germline 配列での立体構造を X 線結晶構造解析により明らかにした。従来の抗体の親和性成熟に関する通説とは異なる、親和性成熟の過程での構造ダイナミクスの変化に関する新たな知見を得た。特に、抗体の CDR4 領域の構造変化に関する知見を得ることができた。さらに、生体内の親和性成熟過程とコンピュータによる分子設計の結果の相違点を、実験的に明らかにした。

- (5) 単ドメイン抗体の抗原認識部位の配列-構造相関を明らかにした。
- タンパク質立体構造データベース (PDB) に登録されている立体構造が既知の 370 個の単ドメイン抗体に基づき、その多様な CDR-H3 の立体構造を目視で分類し、多様なアミノ酸配列との相関関係を明らかにした。これらの知見は、単ドメイン抗体の「立体構造予測」や「合成ライブラリ設計」に役立つことが期待される。
- (6) 上記 1~5 でシミュレーションにより同定され、実験的にもその効果が確認されたデザイン変異を、機械学習によりどの程度予測できるかを検証した。深層学習に基づく抗体立体構造予測精度の検証も行なった。
- 予測モデルの構築には公共データベース (ProTherm および SKEMPI) に登録されている変異情報を用いた。シミュレーションにより得られたデザイン変異のランキングが、機械学習を用いることでどのように変化 (改善) するかを検証した。結果として、デザイン計算の予測精度の向上は見られなかった。その理由の 1 つとして、データベースに登録されている変異体情報の偏り・網羅性の欠如が考えられる。特に変異体のデータベースには、その実験上の要請から、アラニン変異のデータが非常に多く登録されている。そのため、データに大きな偏りが生じてしまい、その偏りの除こうとすると結果として、データセットの数が少なくなってしまう、網羅性が乏しくなってしまう。機械学習をするにあたり学習データの網羅性は一つの鍵となる。深層学習の高い汎化能力を持ってしても、現状では変異の影響を高精度で予測するのは難しい。今後も継続して予測モデルのパラメータのチューニングを行なっていくとともに、変異データ (変異部位・種類および実験評価値) 以外の学習データ (立体構造やアミノ酸配列) を積極的に活用することで、機械学習を用いた抗体分子設計の精度向上につなげたいと考えている。
  - AlphaFold2 がどの程度抗体の立体構造予測に使えるかを検証した。他の抗体に特化した深層学習に基づく予測手法やシミュレーションに基づく予測手法との比較を行った。ベンチマークに用いる抗体としては、予測モデルの構築に使われていない比較的新しい抗体の立体構造を用いた。結果として、いずれの手法でも、CDR-H3 の予測精度は平均すると結晶構造からのズレが  $2 \text{ \AA}$  を超えてしまうことが明らかとなった。ここまで構造がずれてしまうと、そうしたモデル構造をその後のドッキング計算やデザイン計算に用いることは現実的ではない。従って、抗体の立体構造予測問題は未解決な課題であると言える。
- (7) その他、分子動力学計算を用いて、さまざまな実験結果の合理的な解釈を試みた。
- アミノ酸配列の相同性が極めて高いにもかかわらず、その物性に大きな違いが見られる抗体 2 種に対して、MD 計算を用いた比較解析を行い、どのような変異・要因が抗体の物性および機能を決定しているのかを明らかにした。
  - 7 種の単ドメイン抗体のフォールディング機構のシミュレーション解析および実験による物性・機能測定を実施した。単ドメイン抗体の特徴の 1 つとして、その巻き戻り (リフォールディング) のしやすさが知られている。昇温前後で抗原に対する結合性を ELISA で測定したが、今回扱った 7 種の抗体では予想通りのリフォールディングが見られた。一方で、熱安定性を DSC により測定したところ、7 種の抗体で大きな違いが見られた。これらの実験結果を解釈するために、MD 計算を実施し、熱安定、フォールディング機構および機能の関連を精査した。
  - わずか一個の水素が付加されただけで、リン酸基に対するタンパク質の分子認識様式が変化しうる可能性を示した。リン酸基が  $\text{PO}_3^{2-}$  の状態では、その官能基の持つ対称性のために、リン酸基がタンパク質と結合した状態を維持したまま、容易に回転することができる。一方で、 $\text{PO}_3\text{H}^{-1}$  の状態では、そうしたリン酸基の対称性が失われるため、官能基側鎖の回転が難しくなる。リン酸化エピトープを認識する抗体に対しても同様の解析を行い、こうしたリン酸基の回転現象が見られることを確認した。翻訳後修飾によるアミノ酸側鎖のリン酸化は、生体内で普遍的に見られる現象であり、生体内でのそうしたリン酸化状態の異常は即疾患につながる。本研究による成果は、リン酸基を特異的に認識するタンパク質の分子設計に役立つと考えられる。

以上から、本研究により、**立体構造に基づき既存の抗体を改良するための方法論**はある程度確立してきたと考えている。今後は抗体工学の最初のステップである**抗体を取得するところから、情報・計算技術を活用することが期待される**。一方で、**抗体 CDR-H3 の立体構造予測やアミノ酸変異が抗体の物性や機能に与える影響の予測**は、各論としての成功例は報告されているものの、未だ汎用的な技術にはなりえていないことも明らかとなった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 18件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Moriyama S, Anraku Y, Taminishi S, Adachi Y, Daisuke Kuroda, Kita S, Higuchi Y, Kirita Y, Kotaki R, Tonouchi K, Yumoto K, Suzuki T, Someya T, Fukuhara H, Kuroda Y, Yamamoto T, Onodera T, Fukushi S, Maeda K, Nakamura-Uchiyama F, Hashiguchi T, Hoshino A, Maenaka K, Takahashi Y	4. 巻 -
2. 論文標題 Structural delineation and computational design of SARS-CoV-2 broadly neutralizing antibodies against the recent Omicron subvariants	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hanrui Liu, Toni A. Baeumler, Kai Nakamura, Yuga Okada, Seojung Cho, Akihiro Eguchi, Daisuke Kuroda, Kouhei Tsumoto, Ryosuke Ueki, Shinsuke Sando	4. 巻 17(10)
2. 論文標題 An Engineered Synthetic Receptor-Aptamer Pair for an Artificial Signal Transduction System	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 9039-9048
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsnano.2c11744	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Daisuke Kuroda, Kouhei Tsumoto	4. 巻 2552
2. 論文標題 Structural Classification of CDR-H3 in Single-Domain VHH Antibodies	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Methods in molecular biology	6. 最初と最後の頁 61-79
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/978-1-0716-2609-2_2	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 黒田大祐	4. 巻 5(1)
2. 論文標題 抗体および抗原の分子デザイン計算	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 理論化学会誌「フロンティア」	6. 最初と最後の頁 2-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 黒田大祐	4. 巻 40(20)
2. 論文標題 抗体コンピュータ設計の現在地	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 実験医学増刊	6. 最初と最後の頁 122-129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 黒田大祐	4. 巻 43
2. 論文標題 計算化学による抗体の立体構造モデリング	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 SAR News	6. 最初と最後の頁 9-23
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14894/sarnews.43.0_9	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Jungyeon Kim, Hiroka Kobayashi, Marin Yokomine, Yota Shiratori, Takumi Ueda, Koh Takeuchi, Koji Umezawa, Daisuke Kuroda, Kouhei Tsumoto, Jumpei Morimoto, Shinsuke Sando	4. 巻 20(35)
2. 論文標題 Residue-based program of a -peptoid twisted strand shape via a cyclopentane constraint	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 6994-7000
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d2ob01300b	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yasuhiro Fukuda, Marin Yokomine, Daisuke Kuroda, Kouhei Tsumoto, Jumpei Morimoto, Shinsuke Sando	4. 巻 12
2. 論文標題 Peptoid-Based Reprogrammable Template for Cell-Permeable Inhibitors of Protein-Protein Interactions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 13292-13300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1sc01560e	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Keisuke Kasahara, Daisuke Kuroda, Aki Tanabe, Raiji Kawade, Satoru Nagatoishi, Kouhei Tsumoto	4. 巻 563
2. 論文標題 Anion solvation enhanced by positive supercharging mutations preserves thermal stability of an antibody in a wide pH range.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 54-59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.05.053	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Daisuke Kuroda, Kouhei Tsumoto	4. 巻 18
2. 論文標題 Microsecond molecular dynamics suggest that a non-synonymous mutation, frequently observed in patients with mild symptoms in Tokyo, alters dynamics of the SARS-CoV-2 main protease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biophysics and physicobiology	6. 最初と最後の頁 215-222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.bppb-v18.022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Emina Ikeuchi, Daisuke Kuroda, Makoto Nakakido, Akikazu Murakami, Kouhei Tsumoto	4. 巻 11
2. 論文標題 Delicate balance among thermal stability, binding affinity, and conformational space explored by single-domain VHH antibodies	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 20624-20624
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-98977-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Marin Yokomine, Jumpei Morimoto, Yasuhiro Fukuda, Yota Shiratori, Daisuke Kuroda, Takumi Ueda, Koh Takeuchi, Kouhei Tsumoto, Shinsuke Sando	4. 巻 61
2. 論文標題 Oligo(N-methylalanine) as a Peptide-Based Molecular Scaffold with a Minimal Structure and High Density of Functionalizable Sites	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202200119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Rahul Khetan, Robin Curtis, Charlotte M. Deane, Johannes Thorling Hadsund, Uddipan Kar, Konrad Krawczyk, Daisuke Kuroda, Sarah A. Robinson, Pietro Sormanni, Kouhei Tsumoto, Jim Warwicker, Andrew C.R. Martin	4. 巻 14
2. 論文標題 Current advances in biopharmaceutical informatics: Guidelines, impact and challenges in the computational developability assessment of antibody therapeutics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 mAbs	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19420862.2021.2020082	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Koehler Leman J, Weitzner D, Lewis SM, and about 100 others including Kuroda D	4. 巻 17
2. 論文標題 Macromolecular Modeling and Design in Rosetta: New Methods and Frameworks	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Methods	6. 最初と最後の頁 665-680
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41592-020-0848-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Misaki Ishii, Makoto Nakakido, Jose M M Caaveiro, Daisuke Kuroda, C J Okumura, Toshiaki Maruyama, Kevin Entzinger, Kouhei Tsumoto	4. 巻 296
2. 論文標題 Structural Basis for Antigen Recognition by Methylated Lysine Specific Antibodies	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 100176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA120.015996	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Chihoko Yoshimura, Satoru Nagatoishi, Daisuke Kuroda, Yasuo Kodama, Takao Uno, Makoto Kitade, Khoontee Chong-Takata, Hiromi Oshiumi, Hiromi Muraoka, Satoshi Yamashita, Yuichi Kawai, Shuichi Ohkubo, and Kouhei Tsumoto	4. 巻 64
2. 論文標題 Thermodynamic dissection of potency and selectivity of cytosolic Hsp90 inhibitors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 2669-2677
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jmedchem.0c01715	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 Kuroda D, Tsumoto K	4. 巻 109(5)
2. 論文標題 Engineering Stability, Viscosity, and Immunogenicity of Antibodies by Computational Design	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 1631-1651
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2020.01.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawade R, Kuroda D, Tsumoto K	4. 巻 594(5)
2. 論文標題 How the protonation state of a phosphorylated amino acid governs molecular recognition: insights from classical molecular dynamics simulations	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 903-912
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.13674	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morimoto J, Kim J, Kuroda D, Nagatoishi S, Tsumoto K, Sando S	4. 巻 142(5)
2. 論文標題 Per-residue Program of Multiple Backbone Dihedral Angles of $\alpha$ -Peptoids via Backbone Substitutions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 2277-2284
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.9b10496	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kondo HX, Kiribayashi R, Kuroda D, Kohda J, Kugimiya A, Nakano Y, Tsumoto K, Takano Y	4. 巻 9(1)
2. 論文標題 Effects of a remote mutation from the contact paratope on the structure of CDR-H3 in the anti-HIV neutralizing antibody PG16	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19840
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-56154-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Morimoto J, Fukuda Y, Kuroda D, Watanabe T, Yoshida F, Asada M, Nakamura T, Senoo A, Nagatoishi S, Tsumoto K, Sando S	4. 巻 141
2. 論文標題 A Peptoid with Extended Shape in Water	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 14612-14623
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.9b04371	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計23件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 黒田大祐
2. 発表標題 AlphaFold時代の抗体分子設計
3. 学会等名 日本化学会春季年会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 黒田大祐
2. 発表標題 情報技術を用いた抗体の進化と分子設計に関する研究
3. 学会等名 京都大学医生物学研究所 ウイルス学の潮流セミナー (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 黒田大祐
2. 発表標題 抗体創薬における計算・情報科学
3. 学会等名 第5回 大阪公立大学アカデミア創薬シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 黒田大祐
2. 発表標題 計算・情報技術を用いた抗体設計
3. 学会等名 第22回 日本蛋白質科学会 年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 黒田大祐
2. 発表標題 抗体設計に関する分子シミュレーション研究
3. 学会等名 スーパーコンピュータワークショップ2021「生体分子の構造・機能・デザインの計算科学」(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 黒田大祐
2. 発表標題 コンピュータ技術を用いた生体分子の解析と設計
3. 学会等名 次世代医療技術研究会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黒田 大祐, 津本浩平
2. 発表標題 Computational analysis of antibodies and antibody-antigen interactions
3. 学会等名 第19回あわじ感染と免疫国際フォーラム(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黒田大祐
2. 発表標題 Exploring designability of antibodies through computational design
3. 学会等名 大阪大学・蛋白研セミナー（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rimpa Paul, Keisuke Kasahara, Jiei Sasaki, Jorge Fernandez, Ryo Matsunaga, Takao Hashiguchi, Daisuke Kuroda, Kouhei Tsumoto
2. 発表標題 Computational design reveals residues in CDR-L3 responsible for maintaining affinity of an anti-measles antibody to Hemagglutinin
3. 学会等名 Antibody Engineering & Therapeutics (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 笠原慶亮・黒田大祐・河出来時・田部亜季・長門石暁・津本浩平
2. 発表標題 The mechanism by which positive supercharging mutations confer pH-independent thermal stability of an antibody
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 笠原 慶亮、黒田 大祐、河出 来時、田部 亜季、長門石 暁、津本 浩平
2. 発表標題 計算デザイン Supercharging 抗体の物性機能解析
3. 学会等名 第48回 構造活性相関シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本 晃一、中木戸 誠、黒田 大祐、長門石 暁、森本 淳平、山東 信介、津本 浩平
2. 発表標題 Application of $\beta$ -hairpin structure of VHH CDR3 for peptide designs
3. 学会等名 2020年度 医科学研究所G2発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 住川 太一、中木戸 誠、黒田 大祐、津本 浩平
2. 発表標題 足場蛋白質Adhironに移植したペプチドの二次構造解析
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 住川 太一、中木戸 誠、黒田 大祐、津本 浩平
2. 発表標題 Structural analysis of a peptide fragment grafted onto the Adhiron scaffold
3. 学会等名 第20回 日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木下 清晶、中木戸 誠、黒田 大祐、カアベイロ ホセ、津本 浩平
2. 発表標題 分子動力学シミュレーションを用いたCDR-Graftingによる合成VHHにおける分子挙動の解析
3. 学会等名 第58回 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本晃一、中木戸 誠、黒田 大祐、長門石 暁、森本 淳平、山東 信介、津本 浩平
2. 発表標題 VHH抗体 -hairpin型CDR3を利用したペプチド設計手法の探索
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Daisuke Kuroda
2. 発表標題 Addressing the Benefits of Simulations in Computer-aided Antibody Engineering
3. 学会等名 Biologics Manufacturing Japan (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒田大祐
2. 発表標題 コンピュータ技術に基づく抗体の物性・機能予測の現状と課題
3. 学会等名 CBI学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒田大祐, 津本浩平
2. 発表標題 Computational modeling algorithm in antibody engineering: How precise are they?
3. 学会等名 第19回 日本蛋白質科学会 年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金田 生穂, 長門石 暁, 黒田 大祐, 中木戸 誠, カアベイロ ホセ, 津本 浩平
2. 発表標題 Thermodynamic, kinetic and computational analyses of the recognition mechanism of an antibody to a flexible protein antigen
3. 学会等名 CBI学会2019年大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Kouhei Tsumoto, Daisuke Kuroda	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Humana / Springer-Nature	5. 総ページ数 505
3. 書名 Computer-Aided Antibody Design	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	田部 亜季 (Tanabe Aki)  (60786367)	国立感染症研究所・エイズ研究センター・研究員  (82603)	
研究分担者	森本 淳平 (Morimoto Jumpei)  (70754935)	東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・講師  (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------

米国	Johns Hopkins University	University of Washington	New York University	他30機関
----	--------------------------	--------------------------	---------------------	-------